

<p>(51) 国際特許分類6 C07H 15/04, C07D 305/14</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/18113</p> <p>(43) 国際公開日 1999年4月15日(15.04.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/03615</p> <p>(22) 国際出願日 1997年10月8日(08.10.97)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 横浜国際バイオ研究所 (BIO RESEARCH CORPORATION OF YOKOHAMA)[JP/JP] 〒230 神奈川県横浜市鶴見区大黒町13-46 Kanagawa, (JP) 塩水港精糖株式会社 (ENSUIKO SUGAR REFINING CO., LTD.)(JP/JP) 〒230 神奈川県横浜市鶴見区大黒町13-46 Kanagawa, (JP) 科研製薬株式会社 (KAKEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.)(JP/JP) 〒113 東京都文京区本駒込二丁目28番8号 Tokyo, (JP)</p> <p>(71) 出願人 ; および (72) 発明者 萬代忠勝(MANDAI, Tadakatsu)[JP/JP] 〒700 岡山県岡山市北方2-1-19, 301号 Okayama, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 奥本 寛(OKUMOTO, Hiroshi)[JP/JP] 〒709-08 岡山県赤磐郡山陽町桜が丘西10-21-21 Okayama, (JP)</p>		<p>原 浩司(HARA, Koji)[JP/JP] 三国克彦(MIKUNI, Katsuhiko)[JP/JP] 原 耕三(HARA, Kozo)[JP/JP] 〒230 神奈川県横浜市鶴見区大黒町13-46 株式会社 横浜国際バイオ研究所内 Kanagawa, (JP) 土屋吉則(TSUCHIYA, Yoshinori)[JP/JP] 梅津照彦(UMETSU, Teruhiko)[JP/JP] 〒113 東京都文京区本駒込二丁目28番8号 科研製薬株式会社内 Tokyo, (JP) 中村公章(NAKAMURA, Kosho)[JP/JP] 〒607 京都府京都市山科区四ノ宮南河原町14 科研製薬株式会社 開発研究所内 Kyoto, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 久保田藤郎, 外(KUBOTA, Fujio et al.) 〒103 東京都中央区日本橋三丁目3番12号 E-1ビル Tokyo, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AU, CA, CN, JP, KR, RU, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54) Title: TAXOID DERIVATIVES AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME</p> <p>(54) 発明の名称 タキソイド誘導体およびその製造方法</p> <p>(57) Abstract To develop galactose or mannose derivatives such as docetaxel improved both in solubility and physiological activity to thereby give efficacious remedies for cancer while imposing lessened burden to patients. Taxoid derivatives consisting of paclitaxel, docetaxel or 10-deacetylbaccatin III bonded via a spacer to galactose or mannose; and a process for producing taxoid derivatives characterized by reacting paclitaxel, docetaxel or 10-deacetylbaccatin III with hydroxygalactoside tetrabenzylacetate or hydroxymannoside tetrabenzylacetate and debenzylating the reaction product optionally followed by triethylsilylation.</p>		

本発明は、溶解性と生理活性を共に向上したドセタクセル等のガラクトースまたはマンノース誘導体を開発し、患者の負担を軽減し、かつ効果的な癌治療薬を提供することを目的とする。

本発明は、パクリタクセル、ドセタクセルおよび10-デアセチルーバッカチンIIIのいずれかにスペーサーを介してガラクトースまたはマンノースを結合してなるタキソイド誘導体並びにパクリタクセルまたはドセタクセルまたは10-デアセチルーバッカチンIIIをテトラベンジル酢酸オキシガラクトシドまたはテトラベンジル酢酸オキシマンノシドと反応させた後、脱ベンジル反応を行ない、次いで必要に応じて、脱トリエチルシリル反応を行なうことを特徴とするタキソイド誘導体の製造方法を提供するものである。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CY	キプロス	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CZ	チェコ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KR	韓国	RU	ロシア		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		

明 細 書

タキソイド誘導体およびその製造方法

技術分野

本発明は、タキソイド誘導体およびその製造方法に関し、詳しくはパクリタクセル、ドセタクセルおよび10-デアセチルーバッカチンIIIのいずれかにスパーサーを介してガラクトースまたはマンノースを結合して、生理活性、水に対する溶解性を改善したタキソイド誘導体およびその製造方法に関するものである。

背景技術

パクリタクセル (Paclitaxel) は、北米産イチイ (*Taxus brevifolia*) の樹皮から単離されたジテルペン化合物 [M. C. Wani et al.: J. Am. Chem. Soc., 93, 2325 (1971)] で、従来の化学治療では治癒しない癌に対しても改善効果を持つ強力な抗癌剤である。タキソールの癌を抑制するメカニズムは特異的であり、多くの抗癌剤が有糸分裂装置である紡錘体の主成分の微小管の形成を抑えるのに対し、微小管の過剰形成を引き起こし有糸分裂を抑制するものである。

パクリタクセルは有力な抗癌剤であるが、水に対する溶解性が低いため、実際の治療薬としての利用に限られる。そのため、可溶化剤の使用や誘導体として溶解性を改善するための研究が活発に行なわれているが、未だ十分な解決策は見出されていない。例えば、現在パクリタクセルは可溶化剤「クレモフォア」を用いて投与されているが、2週間毎に6時間かけて1L投与し、これを4クール実施するという、患者に大きな負担を与えるもの [Eric K. Rowinsky et al.: CANCER RESEARCH 49, 4640 (1989)] である上に、可溶化剤の副作用が問題となっている。

また、溶解性が改善されたパクリタクセル誘導体としてドセタクセル (Docetaxel) が開発されたが、ドセタクセルの水に対する溶解度は、タキソールの 3.5 倍に過ぎず [I. Ringel et al.: J. Natl. Cancer Inst., 83, 288 (1991)]、さほど改善されてはいない。

パクリタクセルの溶解性を改善するために、タキソールの側鎖や母核に色々な官能基を導入しているが、それらの誘導体のうち、いくつかの化合物には溶解性の改善が認められるものの、生理活性が増強されたものは未だ報告されていない。

また、パクリタクセルの糖誘導体に関する報告はなく、天然にキシロースがエーテル結合している化合物の存在のみが報告されているだけである [H. Lataste et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 4090 (1984)]。

化学的なグリコシル化には、例えば「日本化学会編 第4版 実験化学講座 26 有機合成VIII 第3章」に記載されているように、多くの方法が知られているが、いずれの方法も重金属もしくは強力なルイス酸を用いる必要がある。しかし、パクリタクセルおよびドセタクセルは酸に不安定なオキセタン骨格、立体障害の大きい基本骨格を有しているため、従来の化学的グリコシル化法は効率的に進行しない。一方、酵素によるグリコシル化は、パクリタクセルおよびドセタクセルが極めて水溶性が低いため、目的物が得られない。

さらに、パクリタクセルと同じく北米産イチイから抽出される 10-デアセチル-バッカチンIII はドセタクセルの前駆体であり、本物質を用いて親水性タキソイド誘導体を製造する方法の開発が期待される。

発明の開示

本発明は、上記の事情に鑑み、溶解性と生理活性を共に向上したパクリタクセル等の誘導体を開発し、患者の負担を軽減し、且つ効果的な癌治療薬を提供する

WO 97/10115

ことを目的とする。

本発明者らは、パクリタクセルの誘導体を開発すべく鋭意検討した結果、パクリタクセルにスペーサーを介してエステル結合によりガラクトースまたはマンノースを結合したパクリタクセル誘導体を得られること、誘導体は水に対する溶解性および生理活性の向上が認められることを知見し、本発明を完成させたのである。また、上述のドセタクセルおよび10-デアセチル-バッカチンIIIについても、同様にしてエステル結合にてガラクトースまたはマンノースを結合したタキソイド誘導体を得る方法を確認した。

すなわち本発明は、パクリタクセル、ドセタクセルおよび10-デアセチル-バッカチンIIIのいずれかにスペーサーを介してガラクトースまたはマンノースを結合してなるタキソイド誘導体、その製造方法並びにその用途に関する。

図面の簡単な説明

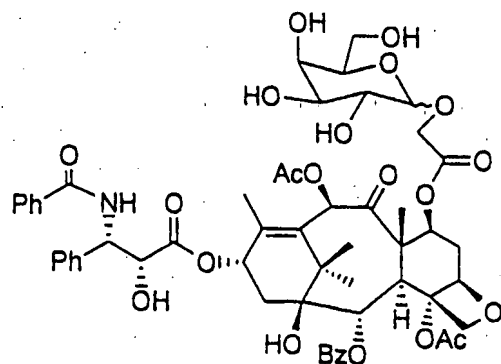
図1は、P388白血病細胞移植マウスの体重に及ぼすタキソイド誘導体の影響を示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

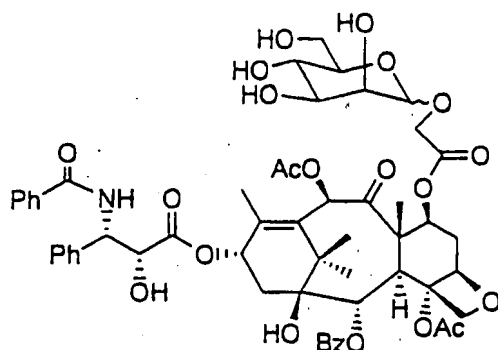
以下、本発明について説明する。

本発明のタキソイド誘導体の具体例を以下に示す。

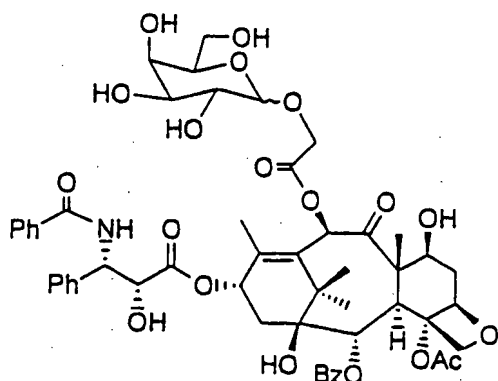
下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-7-パクリタクセル（以下、7-GAG-PTと略す。）、



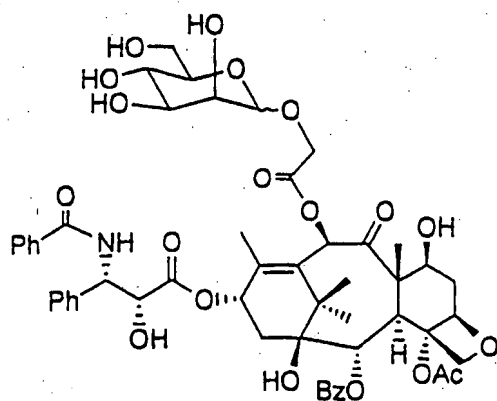
下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-7-パクリタクセル。(以下、7-MAG-PTと略す。)、



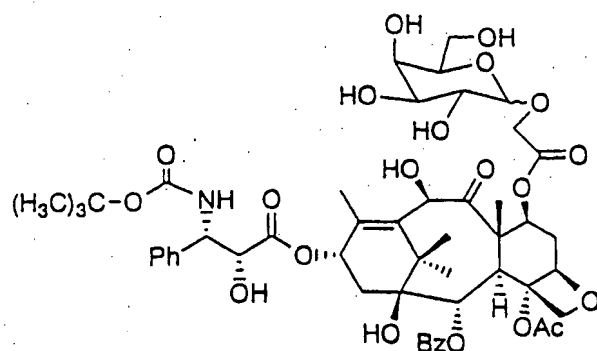
下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-10-パクリタクセル (以下、7-GAG-PTと略す。)、



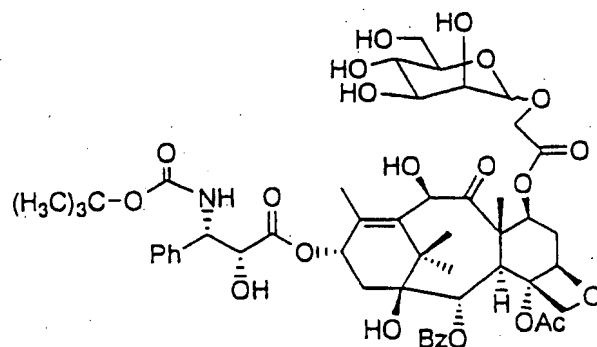
下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-10-パクリタクセル (以下、10-MAG-PTと略す。)、



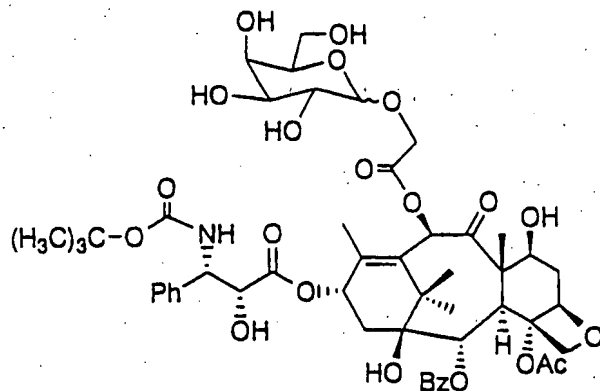
下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-7-ドセタクセル（以下、7-GAG-DTと略す。）、



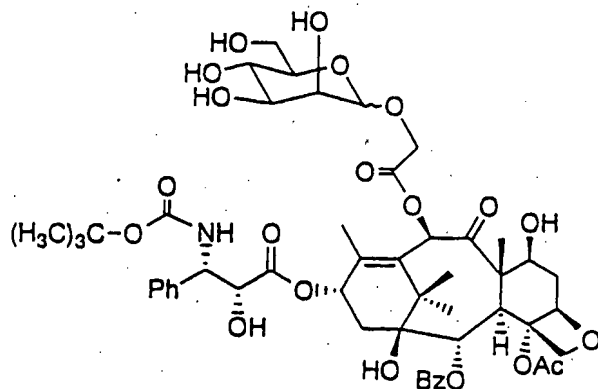
下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-7-ドセタクセル（以下、7-MAG-DTと略す。）、



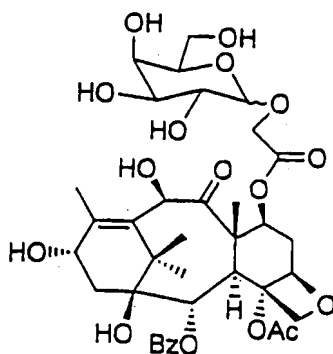
下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-10-ドセタクセル（以下、10-GAG-DTと略す。）、



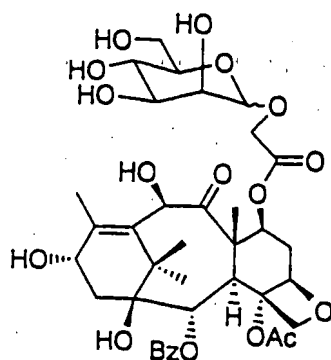
下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-10-ドセタクセル（以下、10-MAG-DTと略す。）、



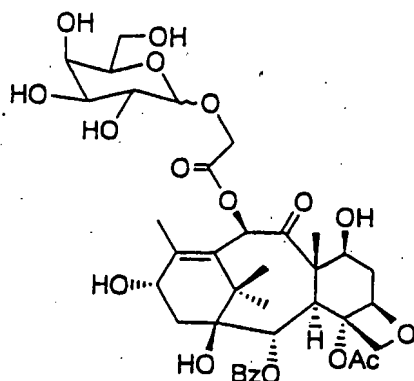
下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-7-バッカチンIII（以下、7-GAG, 10-デアセチル-バッカチンIII と略す。）、



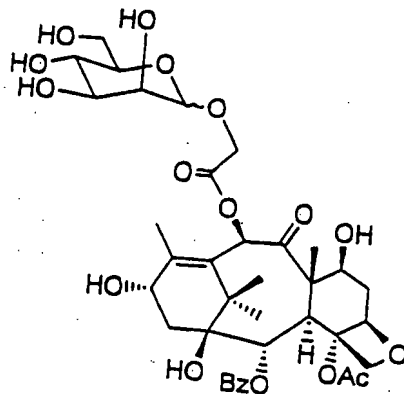
下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-7-バッカチンIII（以下、7-MAG, 10-デアセチル-バッカチンIII と略す。）、



下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-10-パッカチンIII（以下、10-GAG-パッカチンIII と略す。）、



下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-10-パッカチンIII（以下、10-MAG-パッカチンIII と略す。）、

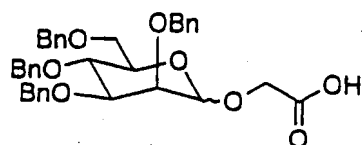
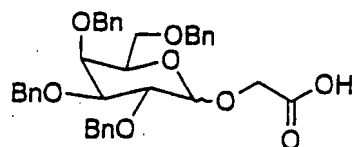


本発明のタキソイド誘導体は、上記したように、パクリタクセル、ドセタксе

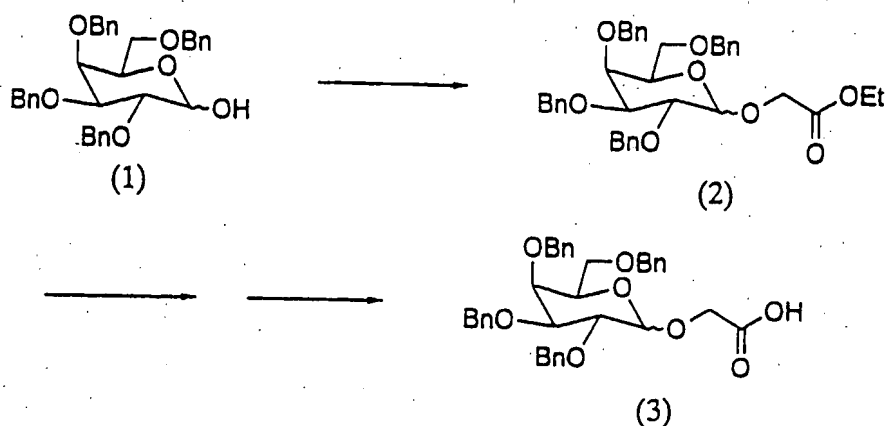
ルおよび10-デアセチル-バッカチンIIIのいずれかにスペーサーを介してガラクトースまたはマンノースを結合してなるものである。

パクリタクセルは、Kingston, D.G.I.: Pharmacol. Ther., 52, 1 (1992)に記載された方法により、北米産イチイ (*Taxus brevifolia*) の樹皮から単離することにより得られる他、化学合成されたもの (R.A. Holton: European Patent-A 40 0971, 1990) なども用いられる。また、ドセタクセルは、Green, A.E. et al.: J. Org. Chem., 59, 1238 (1994)に記載されている方法により、10-デアセチル-バッカチンIIIから誘導される。10-デアセチル-バッカチンIIIは、前記したように、北米産イチイから抽出される天然物である。

パクリタクセル、ドセタクセルおよび10-デアセチル-バッカチンIIIのいずれかにスペーサーを介してガラクトースまたはマンノースを結合する反応は、テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドまたはテトラベンジル酢酸オキシマンノシドを用いて行なわれる。このテトラベンジル酢酸オキシガラクトシドまたはテトラベンジル酢酸オキシマンノシドは、それぞれガラクトースまたはマンノースを出発物質として常法により得られるテトラベンジルガラクトースまたはテトラベンジルマンノースにスペーサーとしてエチルグリコレートなどのグリコレートを結合させてエステル化合物とした後、脱エチル化してカルボン酸化合物としたもので、下記の2つの式で表される。

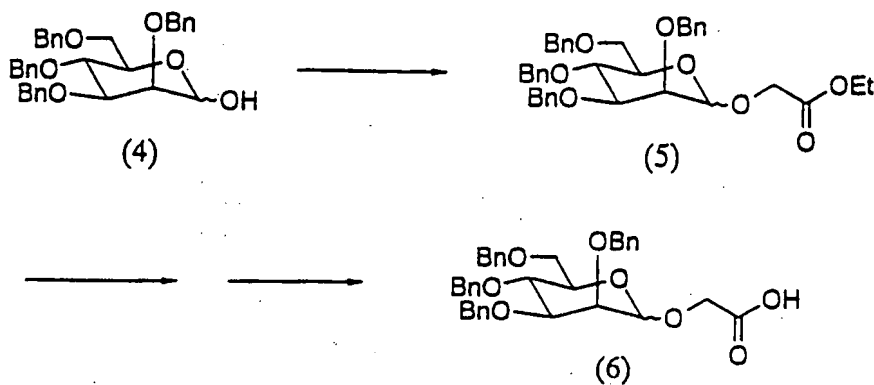


次に、テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドの製造方法の1例をに示す。



常法により得られたテトラベンジルガラクトース（１）にエチルグリコレートをp-トルエンスルホン酸と共にベンゼン中で0～150℃、好ましくは110℃にて0.5～50時間、好ましくは8時間反応させてエチルグリコレートを1位に結合させ、エチルエステル化合物（２）を得る。この後、該化合物（２）をアルカリ（例えば6N NaOH）メタノール-ジオキサン溶液中で室温～100℃にて0.5～50時間、好ましくは3時間処理した後、塩酸（例えば1N HCl）酸性に移して脱エチル化することにより、カルボン酸化合物（３）を得る。この物質が、テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドである。

次に、テトラベンジル酢酸オキシマンノシドの製造方法の1例を以下に示す。

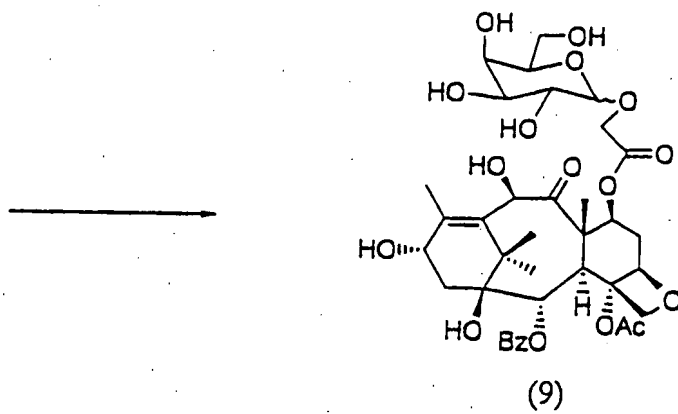
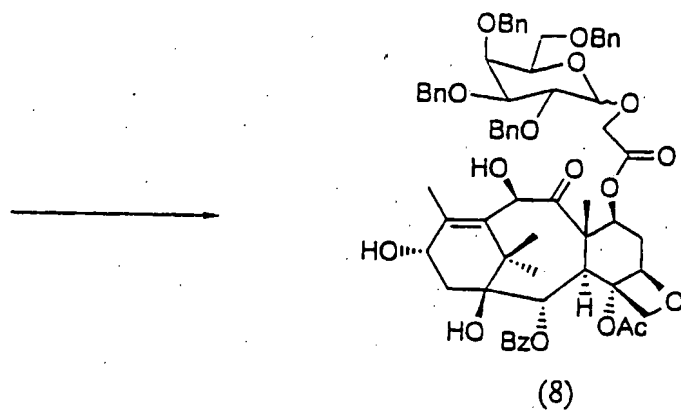
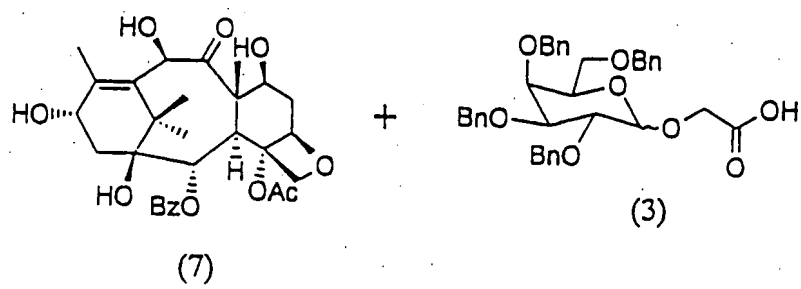


常法により得られたテトラベンジルマンノース(4)にエチルグリコレートをp-トルエンスルホン酸と共にベンゼン中で0~150℃、好ましくは110℃にて0.5~50時間、好ましくは8時間反応させてエチルグリコレートを1位に結合させ、エチルエステル化合物(5)を得る。この後、該化合物(5)をアルカリ(例えば6N NaOH)メタノール-ジオキサン溶液中で室温~100℃にて0.5~50時間、好ましくは3時間処理した後、塩酸(例えば1N HCl)酸性に移して脱エチル化することにより、カルボン酸化合物(6)を得る。この物質が、テトラベンジル酢酸オキシマンノシドである。

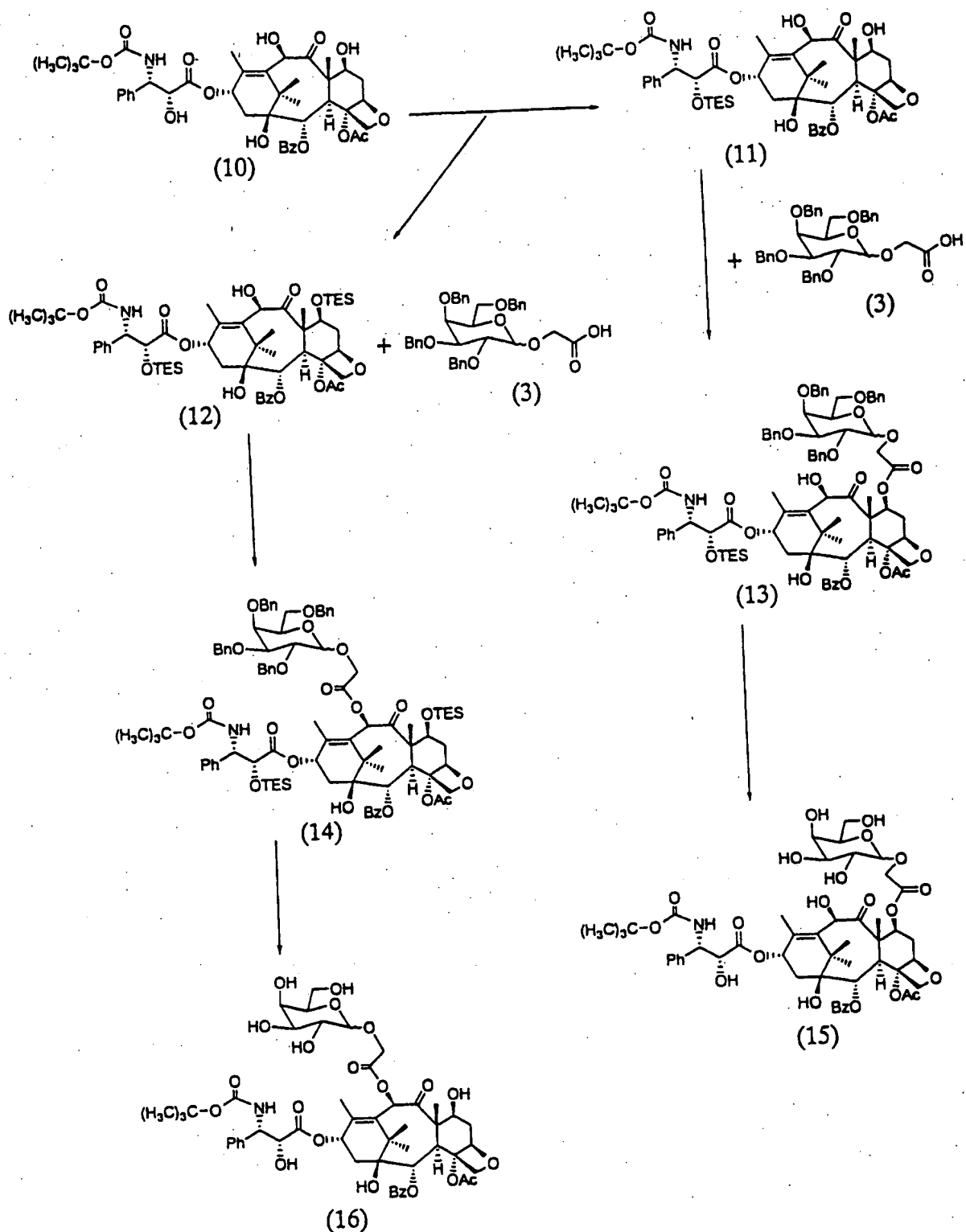
本発明では、糖供与体のスペーサーとしてエチルグリコレートなどのグリコレートを用いているが、この物質のアルキル鎖長を変えることでスペーサーの長さを容易に調節することができる。例えば、3-ヒドロキシ酪酸等をスペーサーとして用いることも可能である。

本発明のタキソイド誘導体は、上述のパクリタクセル、ドセタクセルおよび10-デアセチル-バッカチンIIIのいずれかとテトラベンジル酢酸オキシガラクトシドまたはテトラベンジル酢酸オキシマンノシドを反応させて製造することができる。タキソイド誘導体の製造法の具体例としては、下記の反応工程(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)に示した方法がある。

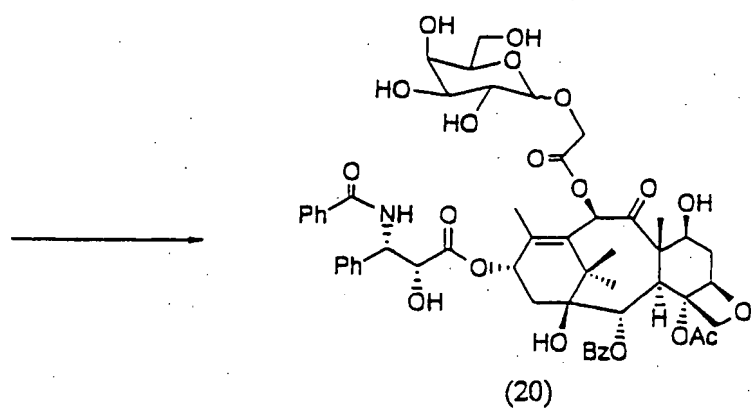
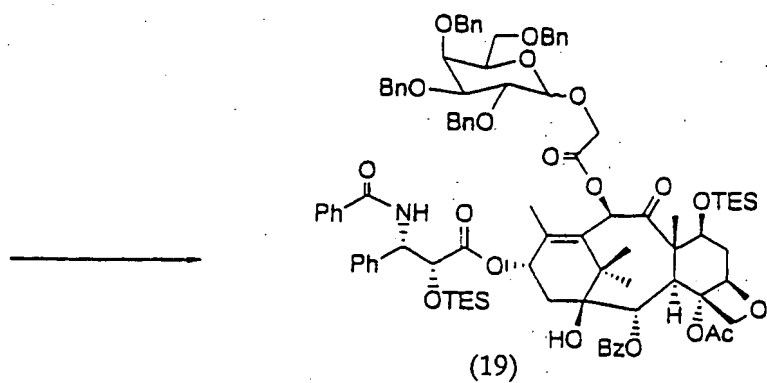
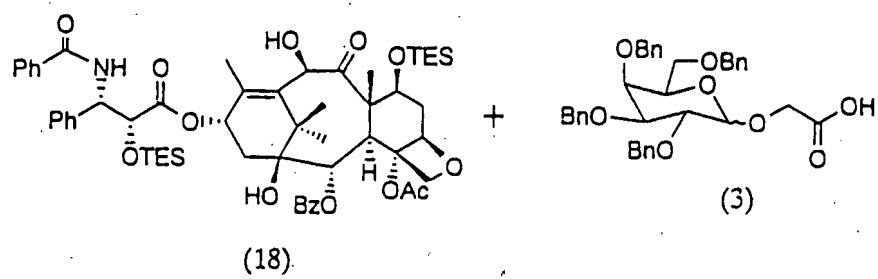
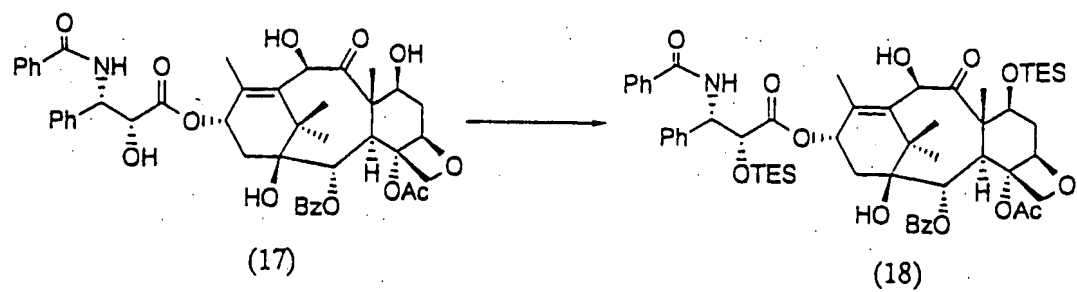
反应工程 (I)



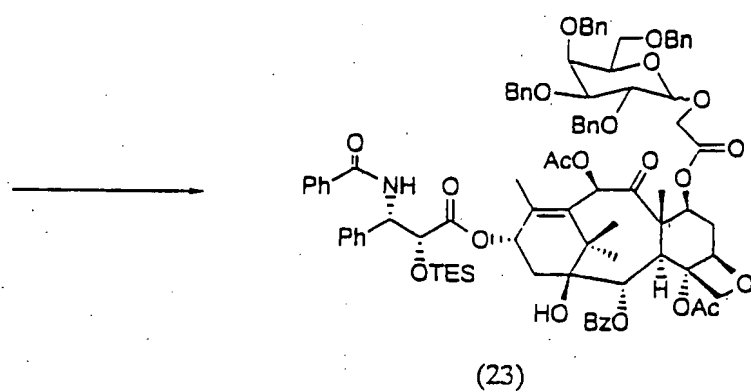
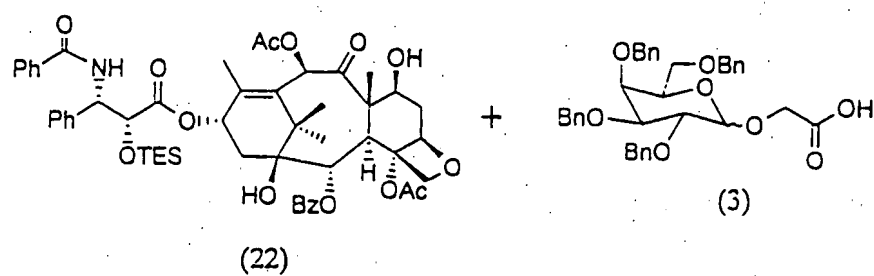
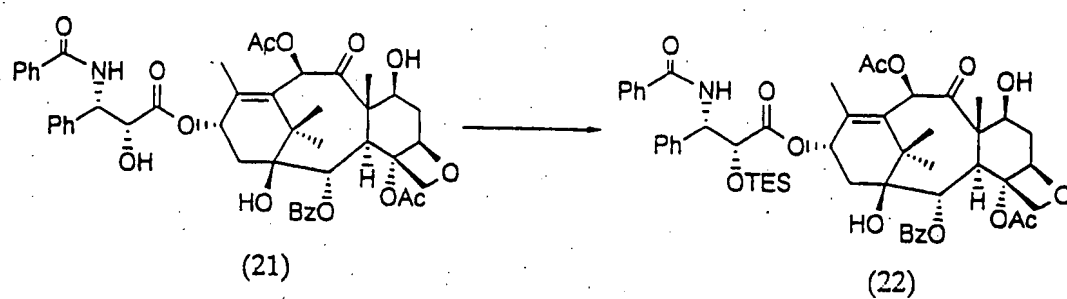
反応工程 (II)



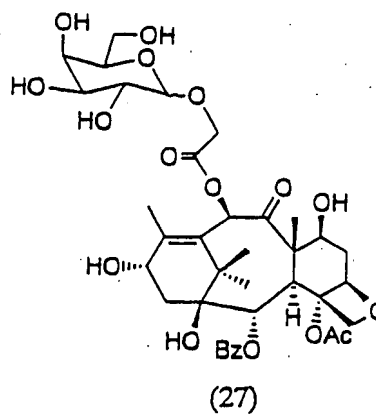
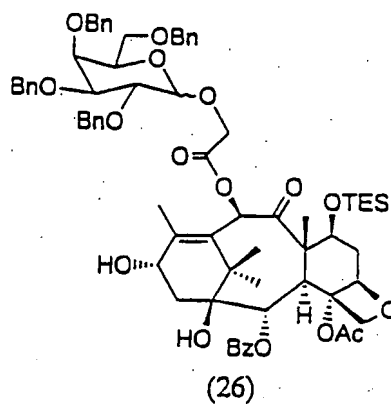
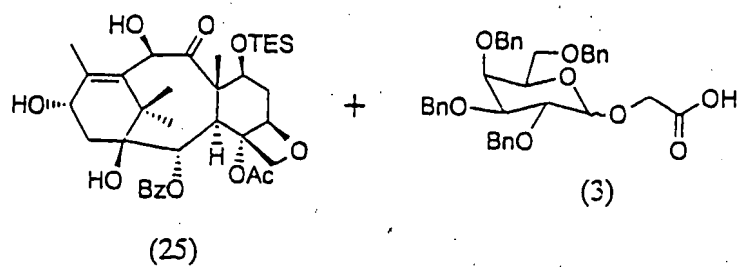
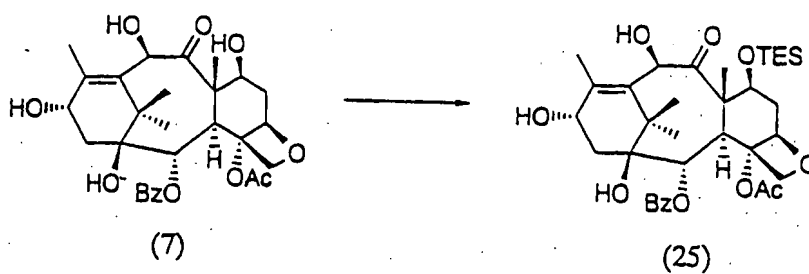
反応工程(III)



反応工程(IV)



反应工程(V)



反応工程 (I) に示した方法は、10-デアセチル-バッカチンIII (7) とテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド (3) を反応させた後、脱ベンジル化するもので、この方法により前記の式で表される7-GAG-バッカチンIII (9) が得られる。

すなわち、10-デアセチル-バッカチンIII (7) とテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド (3) を、4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) 等の塩基、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) 等の縮合剤、塩化メチレン等の溶剤をアルゴン下、室温で0.5~100時間、好ましくは3時間反応させ、配糖化した化合物 (8) を得る。

次に、この化合物 (8) をパラジウムブラック等の触媒、酢酸等の酸と共に水素下、室温で激しく攪拌しながら0.5~100時間、好ましくは15時間反応し、脱ベンジル化を行なって、7-GAG, 10-デアセチル-バッカチンIII (9) を得る。

なお、テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドの代わりにテトラベンジル酢酸オキシマンノシドを用いた場合も同様の反応によって、前記式で表される7-MAG, 10-デアセチル-バッカチンIII を得ることができる。

また、反応工程 (II) に示した方法は、ドセタクセルの2' 位または2' 位と7位をクロロトリエチルシリル基を用いて保護した後にテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド (3) と反応させ、その後、脱ベンジル化および脱トリエチルシリル化するもので、この方法により前記の式で表される7-GAG-DT (15) または10-GAG-DT (16) が得られる。

すなわち、ドセタクセル (10) とクロロトリエチルシラン (TESCl) 等の保護剤、イミダゾール等の塩基、ジメチルホルムアミド (DMF) 等の溶剤をアルゴン下、室温で0.5~50時間、好ましくは3時間反応してドセタクセル

の2'位または2'位と7位をトリエチルシリル基で保護し、化合物(11)または化合物(12)を得る。

次に、得られた化合物(11)または化合物(12)とテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド(3)、DMAP等の塩基、DCC等の縮合剤、塩化メチレン等の溶剤をアルゴン下、室温で0.5~100時間、好ましくは3時間反応し、配糖化した化合物(13)または化合物(14)を得る。

その後、化合物(13)または化合物(14)を、パラジウムブラック等の触媒、酢酸等の酸と共に水素下、室温で激しく攪拌しながら0.5~100時間、好ましくは15時間反応させ、さらにテトラヒドロフラン(THF)等の溶剤と水を加え、室温で0.5~50時間、好ましくは15時間反応させて目的とする化合物(15)または化合物(16)を得る。この化合物(15)が前記式で表される7-GAG-DTであり、化合物(16)が前記式で表される10-GAG-DTである。

なお、テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドの代わりにテトラベンジル酢酸オキシマンノシドを用いた場合も同様の反応によって、前記式で表される7-MAG-DTおよび10-MAG-DTを得ることができる。

また、ドセタクセルの代わりに10-デアセチル-パクリタクセル(17)を用いた場合は、反応工程(III)に従い、2'位と7位を保護した化合物(18)とテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド(3)を反応させて得られた化合物(19)を経て、前記式で表される10-GAG-PT(20)を得ることができる。同様に、テトラベンジル酢酸オキシマンノシドを用いた場合は、前記式で表される10-MAG-PTを得ることができる。

同様に、ドセタクセルの代わりにパクリタクセル(21)を用いた場合は、反応工程(IV)に従い、2'位を保護した化合物(22)とテトラベンジル酢酸オ

キシガラクトシド(3)を反応させて得られた化合物(23)を経て、前記式で表される7-GAG-PT(24)を得ることができる。同様に、テトラベンジル酢酸オキシマンノシドを用いた場合は、前記式で表される7-MAG-PTを得ることができる。

更に、ドセタクセルの代わりに10-デアセチル-バッカチンIII(7)を用いた場合は、反応工程(V)に従い、7位を保護した化合物(25)とテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド(3)を反応させて得られた化合物(26)を経て、前記式で表される10-GAG-バッカチンIII(27)を得ることができる。同様に、テトラベンジル酢酸オキシマンノシドを用いた場合は、前記式で表される10-MAG-バッカチンIIIを得ることができる。

本発明のタキソイド誘導体は、ODSなどのシリカゲルを母体とする担体を用いた液体クロマトグラフィーを適用することにより、容易にアノマーを分離することができ、医薬品としても利用できる精製標品が得られる。

これらのタキソイド誘導体はいずれも水に対する溶解度が向上しており、パクリタクセルの溶解度が $0.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ であるのに対し、例えば7-GAG-PTは $67.8 \mu\text{g}/\text{ml}$ (169倍)、7-MAG-PTは $103.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ (257倍)、10-GAG-DT(α -アノマー)は $481.7 \mu\text{g}/\text{ml}$ (1204倍)、10-GAG-DT(β -アノマー)は $301.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ (753倍)、10-MAG-DT(α -アノマー)は $1038.6 \mu\text{g}/\text{ml}$ (2596倍)である。また、これらのタキソイド誘導体は、アルコールに対する溶解性も改善されている。

これらのタキソイド誘導体をin vivoにおいてP388白血病細胞を移植したマウスに投与したところ、パクリタクセルと比較して10-MAG-DTではほぼ同等、10-GAG-DTでは1.2倍の延命効果があった。また、そのとき

のマウスの体重は、パクリタクセルを投与した場合、急激に体重が減少したが、これらのタキソイド誘導体では、全く体重の減少は見られなかったことより、安全性についても優れているという結果が得られた。このように、各タキソイド誘導体の生理活性はパクリタクセルと同等かそれ以上であり、また安全性についても優れていることから、本発明のタキソイド誘導体を抗癌剤として用いることが可能である。また、ガラクトースやマンノースは生体内、特に肝細胞と親和性があるため、肝臓癌の治療に有効である。

次に、本発明を実施例により詳しく説明するが、本発明はこれらにより制限されるものではない。

製造例 1

常法により得られたテトラベンジルガラクトース (1) 10 mmol、エチルグリコレート 30 mmol、p-トルエンスルホン酸 1 mmol、ベンゼン 10 ml を 110°C で 8 時間反応させ、化合物 (2) ($C_{38}H_{42}O_8$ 、分子量 626.74) を得た。

次いで、この化合物 3 mmol を 6N NaOH 10 ml、メタノール 10 ml、ジオキサン 15 ml と共に室温～100°C で 3 時間反応させた後、1N HCl 80 ml 中に移して脱エチル化することにより、化合物 (3)、すなわちカルボン酸化合物 ($C_{36}H_{38}O_8$ 、分子量 598.69) を得た。

製造例 2

常法により得られたテトラベンジルマンノース (4) 10 mmol、エチルグリコレート 30 mmol、p-トルエンスルホン酸 1 mmol、ベンゼン 10 ml を 110°C で 8 時間反応させ、化合物 (5) ($C_{38}H_{42}O_8$ 、分子量 626.74) を得た。

次いで、この化合物 3 mmol を 6N NaOH 10 ml、メタノール 10 ml、ジオキサン 15 ml と共に室温～100℃で3時間反応させた後、1N HCl 80 ml 中に移して脱エチル化することにより、化合物(6)、すなわちカルボン酸化合物 ($C_{36}H_{38}O_8$ 、分子量 598.69) を得た。

実施例 1

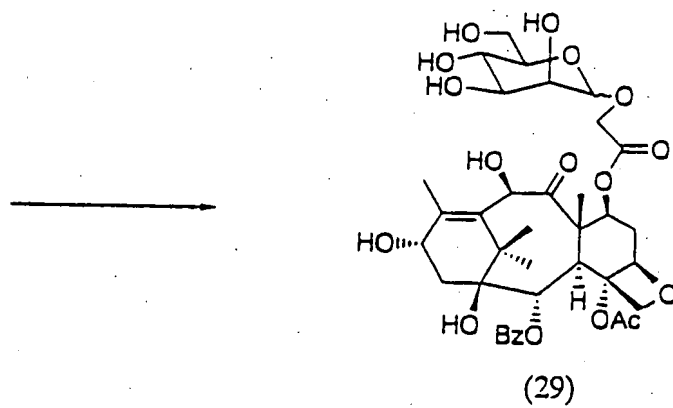
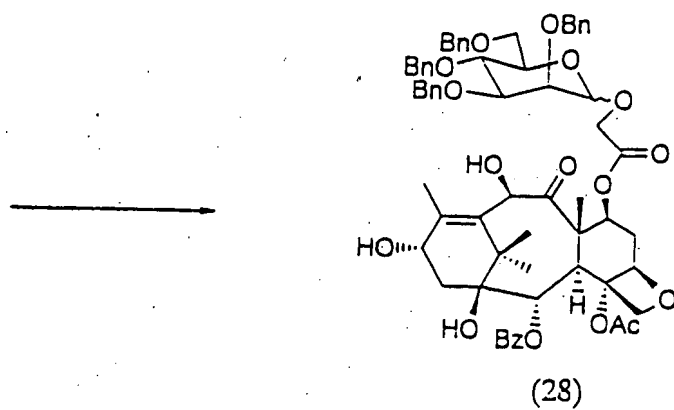
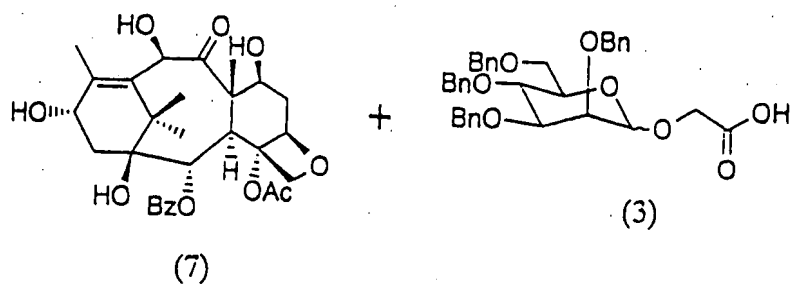
10-デアセチル-バッカチンIII (7) 0.3 mmol、製造例 1 で得たテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド (3) 0.6 mmol、4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) 1 mmol、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) 1 mmol および塩化メチレン 5 ml をアルゴン下、室温で3時間反応し、7位に配糖化した化合物(8) ($C_{65}H_{72}O_{17}$ 、分子量 1125.27) を得た。

この化合物(8) 0.2 mmol をパラジウムブラック 100 mg および酢酸 3 ml と水素下、室温で激しく攪拌しながら15時間反応して脱ベンジル化を行ない、7-GAG, 10-デアセチル-バッカチンIII (9) ($C_{37}H_{48}O_{17}$ 、分子量 764.78) を得た。この化合物は、反応工程(I)により製造される。

実施例 2

テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドの代わりに、製造例 2 で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド(6)を用いて、前記実施例 1 と同様にして10-デアセチル-バッカチンIII と反応させて化合物(28)を得た後、ベンジル基を外して7-MAG, 10-デアセチル-バッカチンIII (2.9) ($C_{37}H_{48}O_{17}$ 、分子量 764.78) を得た。この化合物は、下記の反応工程(VI)により製造される。

反应工程(VI)



実施例 3

ドセタクセル (10) 0.5 mmol とクロロトリエチルシラン (TESCl) 1 mmol、イミダゾール 1 mmol およびジメチルホルムアミド (DMF) 5 ml をアルゴン下、室温で 3 時間反応し、ドセタクセルの 2' 位または 2' 位と 7 位をトリエチルシリル基 (TES) で保護し、化合物 (11) および (12) を得た。

これらの化合物 (11) および (12) 0.3 mmol と製造例 1 で得たテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド (3) 0.6 mmol、DMAP 1 mmol、DCC 1 mmol および塩化メチレン 5 ml をアルゴン下、室温で 3 時間反応し、配糖化した化合物 (13) および (14) を得た。

得られた化合物 (13) および (14) 0.2 mmol、パラジウムブラック 100 mg および酢酸 3 ml を水素下、室温で激しく攪拌しながら 15 時間反応した。さらに、テトラヒドロフラン (THF) 1 ml と水 1 ml を加え、室温で 15 時間反応して 7-GAG-DT (15) ($C_{51}H_{65}NO_{21}$ 、分子量 1028.07) と 10-GAG-DT (16) ($C_{51}H_{65}NO_{21}$ 、分子量 1028.07) を得た。

次に、シリカゲル (商品名: ODS、ワイエムシィ社製) を充填したカラム ($\phi 20\text{ mm} \times 250\text{ mm}$) を用い、メタノールを移動相として 7-GAG-DT および 10-GAG-DT をそれぞれアノマー毎に精製した。この化合物は、反応工程 (II) により製造される。

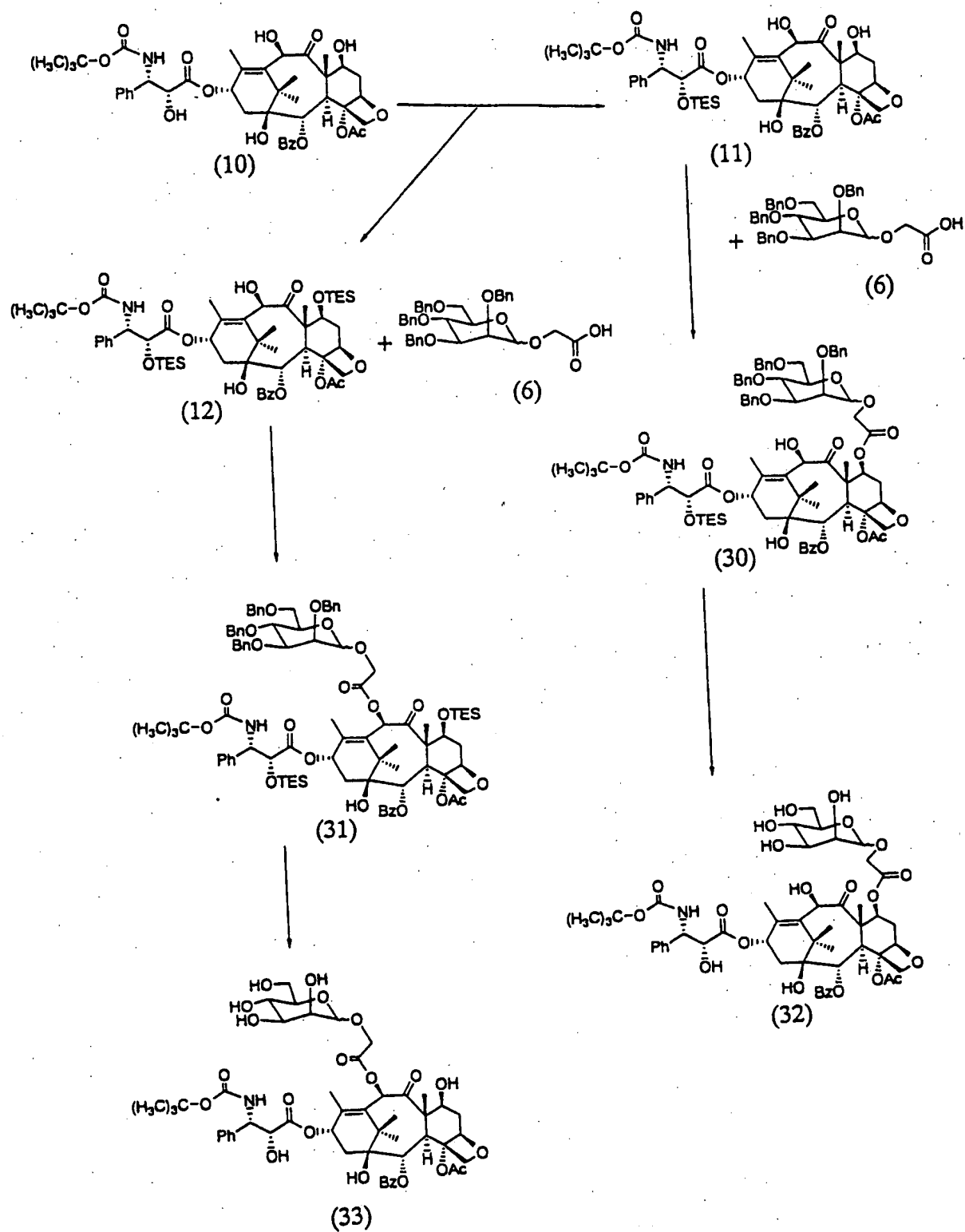
実施例 4

テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドの代わりに、製造例 2 で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド (6) を用いて、前記実施例 3 と同様にして配糖体を得ることができる。

すなわち、ドセタクセルの2' または2' 位と7位をTESで保護した化合物(11)と(12)を得た後、製造例2で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド(6)と反応させて化合物(30)および(31)を得た。その後、これらの化合物(30)および(31)からベンジル基とTESを外して7-MAG-DT(32) ($C_{51}H_{65}NO_{21}$ 、分子量1028.07)および10-MAG-DT(33) ($C_{51}H_{65}NO_{21}$ 、分子量1028.07)を得た。

次に、カラムにて7-MAG-DTおよび10-MAG-DTをそれぞれ精製した。この化合物は、下記の反応工程(VII)により製造される。

反应工程(VII)



実施例 5

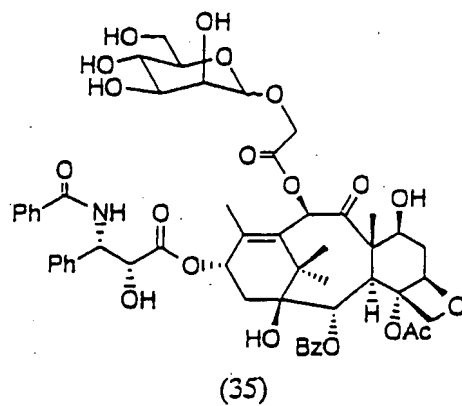
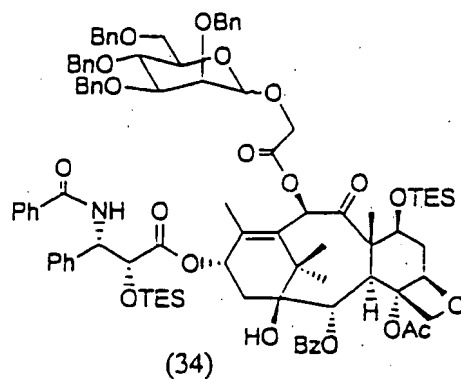
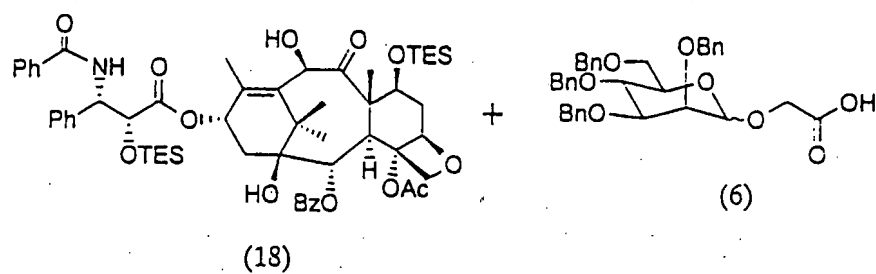
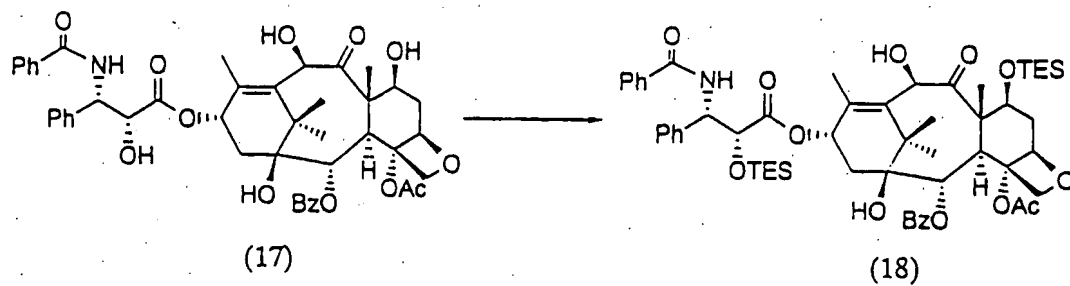
ドセタクセルの代わりに10-デアセチル-パクリタクセル(17)を用いて、前記実施例3と同様にして10-デアセチル-パクリタクセルの2'位と7位をTES基で保護した化合物(18)を得た後、製造例1で得たテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド(3)と反応させて化合物(19)を得た。その後、この化合物(19)からベンジル基とTES基を外して10-GAG-PT(20) ($C_{53}H_{61}NO_{20}$ 、分子量1032.06)を得た。この化合物は、反応工程(III)により製造される。

実施例 6

テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドの代わりに、製造例2で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド(6)を用いて、前記実施例5と同様にして配糖体を得ることができる。

すなわち、10-デアセチル-パクリタクセルの2'位と7位をTES基で保護した化合物(18)を得た後、製造例2で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド(6)と反応させて化合物(34)を得た。その後、この化合物(34)からベンジル基とTES基を外して10-MAG-PT(35) ($C_{53}H_{61}NO_{20}$ 、分子量1032.06)を得た。この化合物は、下記の反応工程(VIII)により製造される。

反应工程(VIII)



実施例 7

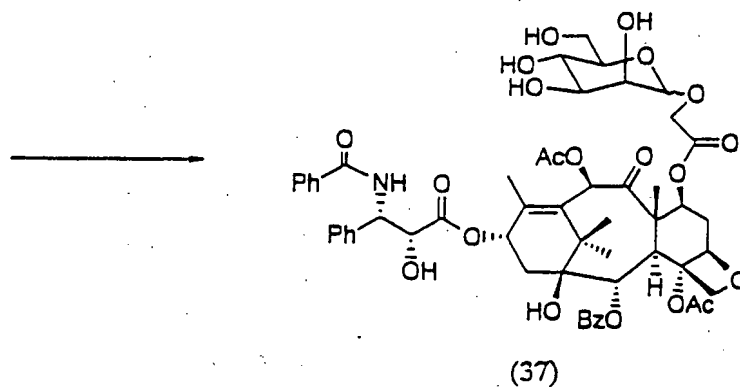
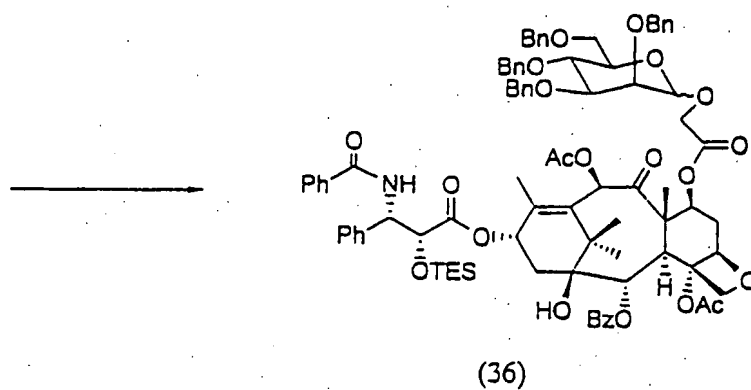
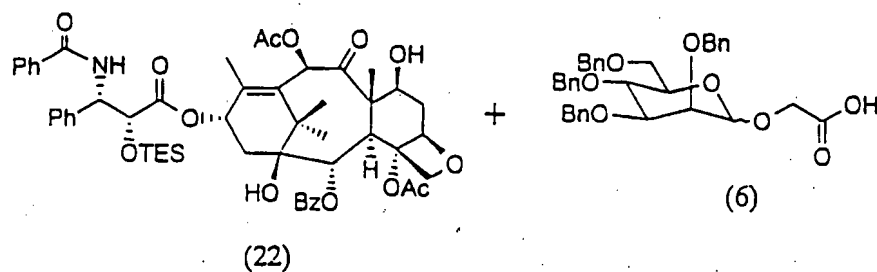
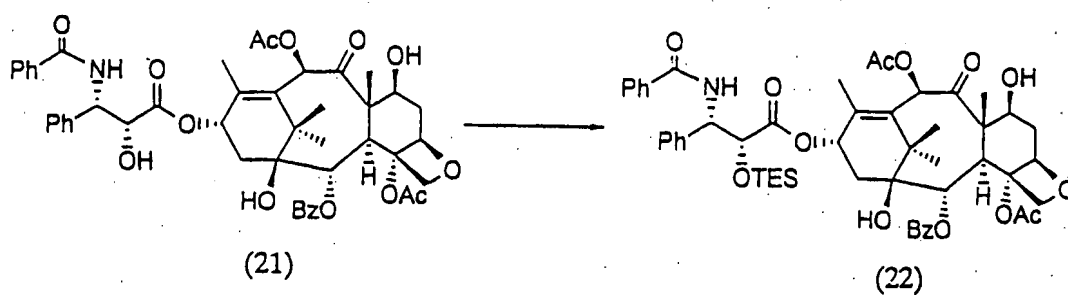
ドセタクセルの代わりにパクリタクセル (21) を用いて、前記実施例 3 と同様にしてパクリタクセルの 2' 位を T E S 基で保護した化合物 (22) を得た後、製造例 1 で得たテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド (3) と反応させて化合物 (23) を得た。その後、この化合物 (23) からベンジル基と T E S 基を外して 7-GAG-PT (24) ($C_{55}H_{63}NO_{21}$ 、分子量 1074.10) を得た。この化合物は、反応工程 (IV) により製造される。

実施例 8

テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドの代わりに、製造例 2 で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド (6) を用いて、前記実施例 7 と同様にして配糖体を得ることができる。

すなわち、パクリタクセルの 2' 位を T E S 基で保護した化合物 (22) を得た後、製造例 2 で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド (6) と反応させて化合物 (36) を得た。その後、この化合物 (36) からベンジル基と T E S 基を外して 7-MAG-PT (37) ($C_{55}H_{63}NO_{21}$ 、分子量 1074.10) を得た。この化合物は、下記の反応工程 (IX) により製造される。

反应工程(IX)



実施例 9

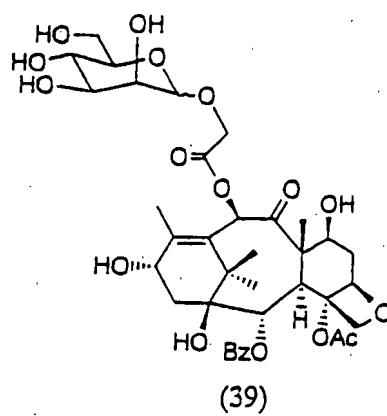
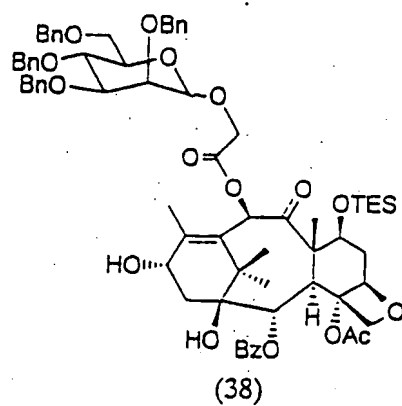
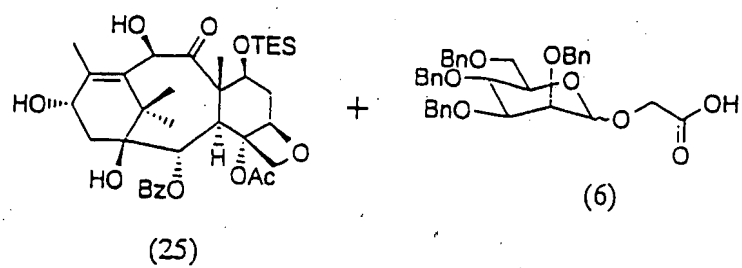
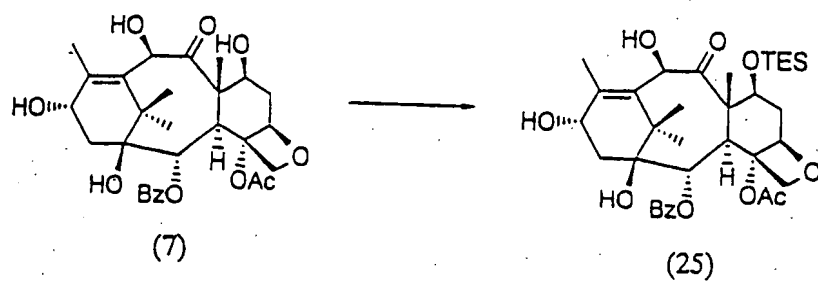
ドセタクセルの代わりに、10-デアセチル-バッカチンIII (7) を用い、前記実施例 3 と同様にして10-デアセチル-バッカチンIII の7位をTES基で保護した化合物(25)を得た後、製造例1で得たテトラベンジル酢酸オキシガラクトシド(3)と反応させて化合物(26)を得た。その後、この化合物(26)からベンジル基とTES基を外して10-GAG-バッカチンIII (27) ($C_{37}H_{48}NO_{17}$ 、分子量764.78)を得た。この化合物は、反応工程(V)により製造される。

実施例 10

テトラベンジル酢酸オキシガラクトシドの代わりに、製造例2で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド(6)を用いて、前記実施例9と同様にして配糖体を得ることができる。

すなわち、10-デアセチル-バッカチンIII の7位をTES基で保護した化合物(25)を得た後、製造例2で得たテトラベンジル酢酸オキシマンノシド(6)と反応させて化合物(38)を得た。その後、この化合物(38)からベンジル基とTES基を外して10-MAG-バッカチンIII (39) ($C_{37}H_{48}NO_{17}$ 、分子量764.78)を得た。この化合物は、下記の反応工程(X)により製造される。

反应工程(X)



実施例 11

パクリタクセル、7-GAG-PT、7-MAG-PT、10-GAG-DT (α -アノマー)、10-GAG-DT (β -アノマー)、10-MAG-DT (α -アノマー)をそれぞれ10mg秤取し、水5mlを加えて18時間攪拌した。攪拌終了後、上清をメンブレンフィルター(0.45 μ m)にて濾過し、濾液をHPLCにて分析した。その結果、各化合物の水に対する溶解度は第1表に示す通りであった。なお、HPLCの分析条件は以下の通りである。

カラム: Metachem製 Taxil 5 μ (4.6 \times 250 mm)

溶 媒: MeOH/H₂O (80/20)

流 速: 0.5 ml/min

検出器: フォトダイオードアレイ検出器 (230 nm)

注入量: 20 μ l

第1表

サンプル	溶解度 (μ g/ml)
パクリタクセル	0.4
7-GAG-PT	67.8
7-MAG-PT	103.0
10-GAG-DT (α -アノマー)	481.7
10-GAG-DT (β -アノマー)	301.4
10-MAG-DT (α -アノマー)	1038.6

表から明らかなように、パクリタクセルと比較して、タキソイド誘導体の溶解度は飛躍的に向上している。また、水溶液中でも分解は受けず、安定であった。

実施例 12

パクリタクセル、10-GAG-DT (α -アノマー)、10-GAG-DT (β -アノマー)、10-MAG-DT (α -アノマー) について P388 白血病細胞を移植したマウスを用いて、抗腫瘍試験を行なった。

マウスは、7週齢のCDF1マウス(雄性)を用いた。P388白血病細胞は、DBA/2マウス腹腔内で継代したものを、マウスあたり 10^6 個腹腔内に注入した。サンプルは、パクリタクセルの場合、エタノール：クレモフォア = 1 : 1 の溶液に 6 mg/ml になるように溶解した後、生理食塩液で 3 倍希釈したものを 1 回あたりマウス 10 g につき 0.1 ml を腹腔内投与した。タキソイド誘導体は、エタノール：クレモフォア = 1 : 1 の溶液に 60 mg/ml になるように溶解した後、生理食塩液で 30 倍希釈したものを 1 回あたりマウス 10 g につき 0.1 ml を腹腔内投与した。

試験は、P388白血病細胞を腹腔内注入した翌日より、サンプルを 5 日間連続で腹腔内投与し、その生存日数と体重変化について観察した。

生存日数の結果を第 2 表に、体重変化の結果を図 1 に示す。

第 2 表

処 置	動物数	個体別生存日数	生存日数 中央値	%T/C ^{a)}
無処置対照	10	7 7 7 7 7 7 7 7 7 10	7	—
パクリタキセル 溶媒対照	10	7 7 7 7 7 7 7 7 7 7	7	100
パクリタキセル 20mg/kg	9	9 9 10 10 10 10 11 11 12	10	143
パクリタキセル 誘導体溶媒対照	10	7 7 7 7 7 7 7 7 7 7	7	100
10-MAG-DT(α -アノマー)20mg/kg	10	8 9 9 9 9 9 9 10 11 15	9	129
10-GAG-DT(α -アノマー)20mg/kg	10	10 11 11 11 12 12 12 12 13 14	12	171
10-GAG-DT(β -アノマー)20mg/kg	10	11 11 11 11 12 12 12 12 13 20	12	171

$$\frac{\text{各処置群の生存日数中央値 (日)}}{\text{対照群の生存日数中央値 (日)}} \times 100$$

表より、コントロール群では生存中央値が7日に対して、パクリタキセル群では10日、10-MAG-DT(α -アノマー)群では9日、10-GAG-DT(α -アノマー)群では12日、10-GAG-DT(β -アノマー)群では12日であった。このことより、これらタキソイド誘導体は、パクリタキセルとほぼ同等かそれ以上の抗腫瘍活性があることが分かった。特に、10-GAG-DTは優れた抗腫瘍活性を有していた。

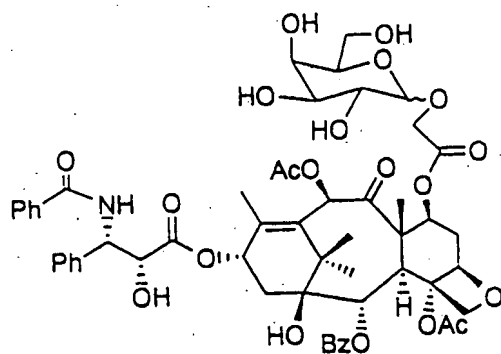
また、図より明らかなように、パクリタキセル群では薬剤を投与後、急激に体重が減少しているが、これらタキソイド誘導体ではほとんど体重の増減は見られず、安全性の面においても優れていることが示された。

産業上の利用可能性

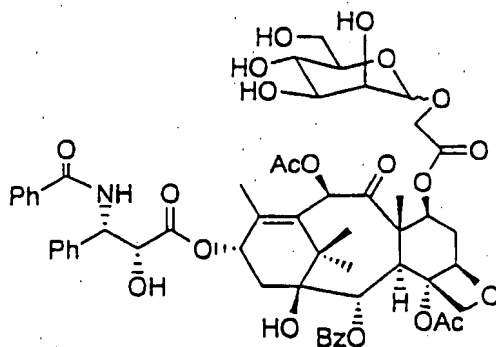
本発明により、水に対する溶解度が向上し、かつ生理活性も改善されたタキソイド誘導体と、その製造方法が提供される。このタキソイド誘導体は、患者の負担を軽減し、かつ効果的な癌治療薬としての利用が期待できる。

請求の範囲

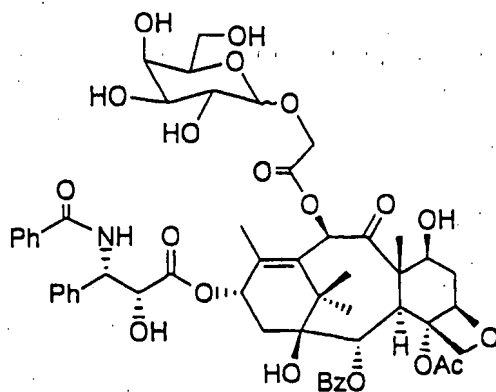
- (1) パクリタクセル、ドセタクセルおよび10-デアセチルバッカチンIIIのいずれかにスペーサーを介してガラクトースまたはマンノースを付加してなるタキソイド誘導体。
- (2) スペーサーがグリコレートである請求項1記載のタキソイド誘導体。
- (3) 下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-7-パクリタクセル。



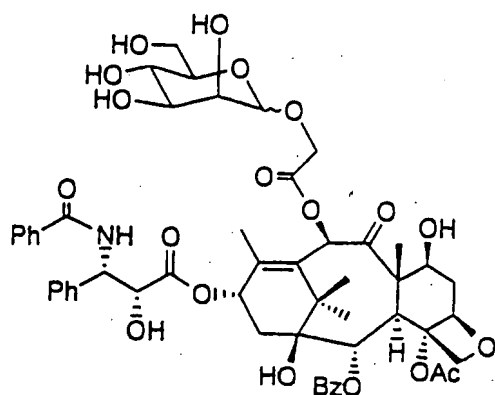
- (4) 下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-7-パクリタクセル。



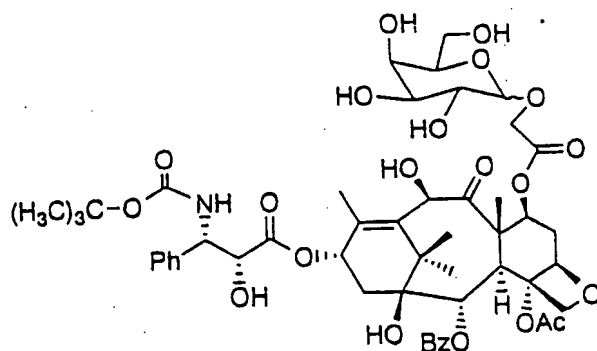
- (5) 下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-10-パクリタクセル。



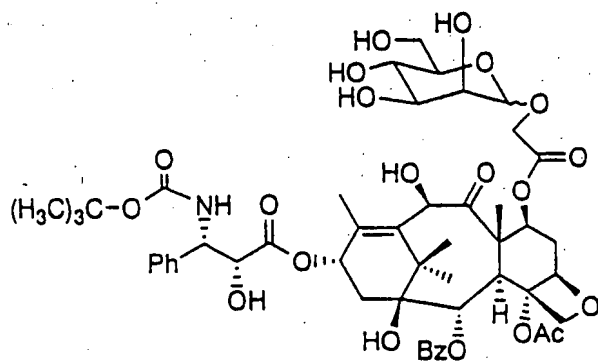
- (6) 下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-10-パクリタクセル。



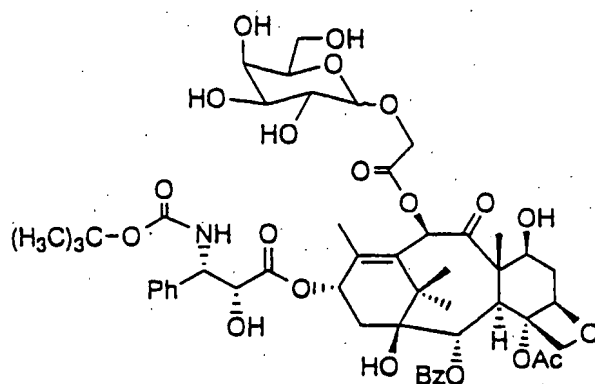
- (7) 下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-7-ドセタクセル。



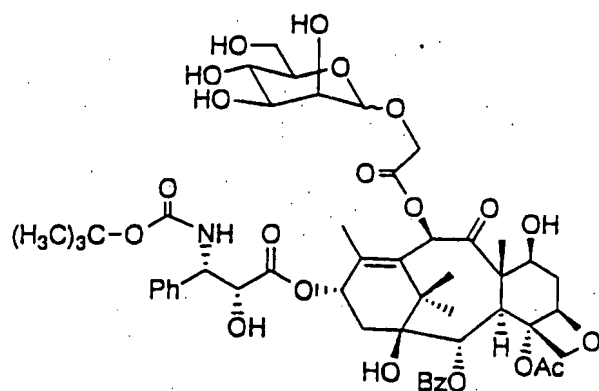
- (8) 下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-7-ドセタクセル。



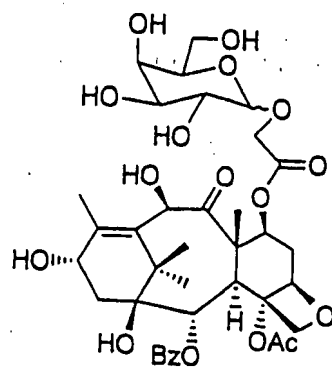
(9) 下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-10-ドセタクセル。



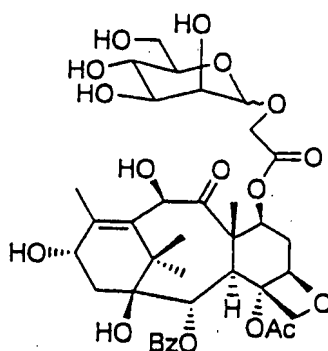
(10) 下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-10-ドセタクセル。



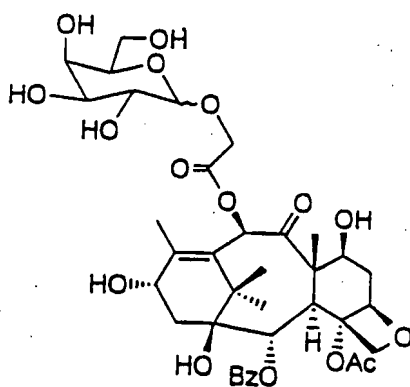
(11) 下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-7-バッカチンIII。



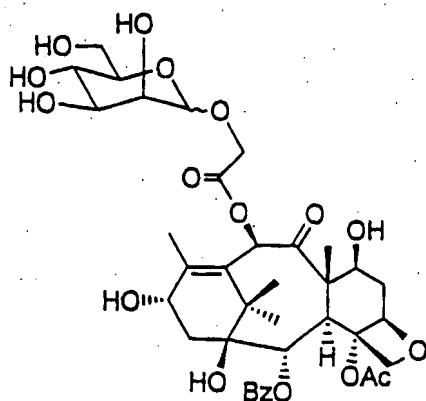
(12) 下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-7-バッカチンIII。



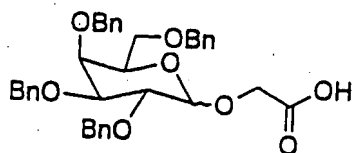
(13) 下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチル-10-バッカチンIII。



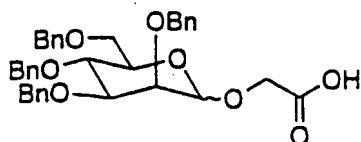
(14) 下記の式で表されるマンノシルオキシアセチル-10-バッカチンIII。



(15) パクリタクセルまたはドセタクセルの2' 位の水酸基をクロロトリエチルシランで保護した後、下記の式で表されるテトラベンジル酢酸オキシガラクトシドと反応させ、次いで脱ベンジルおよび脱トリエチルシリル反応を行なうことを特徴とする請求項3または7記載のタキソイド誘導体の製造方法。

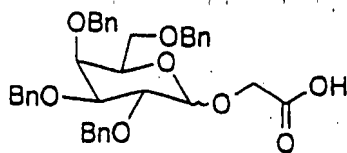


(16) パクリタクセルまたはドセタクセルの2' 位の水酸基をクロロトリエチルシランで保護した後、下記の式で表されるテトラベンジル酢酸オキシマンノシドと反応させ、次いで脱ベンジルおよび脱トリエチルシリル反応を行なうことを特徴とする請求項4または8記載のタキソイド誘導体の製造方法。

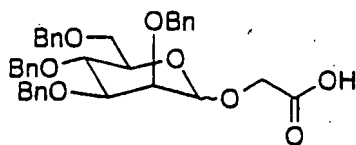


(17) 10-デアセチル-パクリタクセルまたはドセタクセルの2' 位および7 位の水酸基をクロロトリエチルシランで保護した後、下記の式で表されるテトラベンジル酢酸オキシガラクトシドと反応させ、次いで脱ベンジルおよび脱トリエチルシリル反応を行なうことを特徴とする請求項5または9記載のタキソイド誘導体の製造方法。

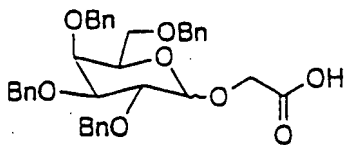
導体の製造方法。



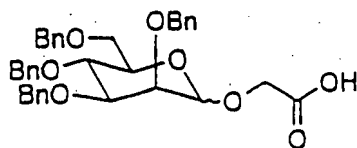
(18) 10-デアセチル-パクリタクセルまたはドセタクセルの2'位および7位の水酸基をクロロトリエチルシランで保護した後、下記の式で表されるテトラベンジル酢酸オキシマンノシドと反応させ、次いで脱ベンジルおよび脱トリエチルシリル反応を行なうことを特徴とする請求項6または10記載のタキソイド誘導体の製造方法。



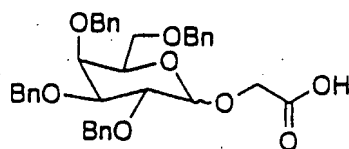
(19) 10-デアセチル-バッカチンIIIの7位の水酸基をクロトリエチルシリランで保護した後、下記の式で表されるテトラベンジル酢酸オキシガラクトシドと反応させ、次いで脱ベンジルおよび脱トリエチルシリル反応を行なうことを特徴とする請求項13記載のタキソイド誘導体の製造方法。



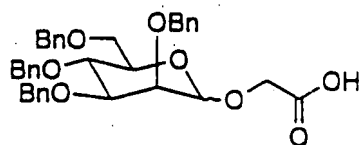
(20) 10-デアセチル-バッカチンIIIの7位の水酸基をクロロトリエチルシランで保護した後、下記の式で表されるテトラベンジル酢酸オキシマンノシドと反応させ、次いで脱ベンジルおよび脱トリエチルシリル反応を行なうことを特徴とする請求項14記載のタキソイド誘導体の製造方法。



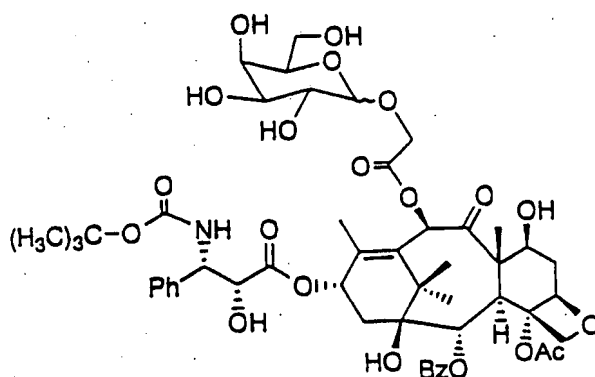
(21) 10-デアセチルーバッカチンIII と下記の式で表されるテトラベンジル酢酸オキシガラクトシドと反応させ、次いで脱ベンジル反応を行なうことを特徴とする請求項11記載のタキソイド誘導体の製造方法。



(22) 10-デアセチルーバッカチンIII と下記の式で表されるテトラベンジル酢酸オキシマンノシドと反応させ、次いで脱ベンジル反応を行なうことを特徴とする請求項12記載のタキソイド誘導体の製造方法。

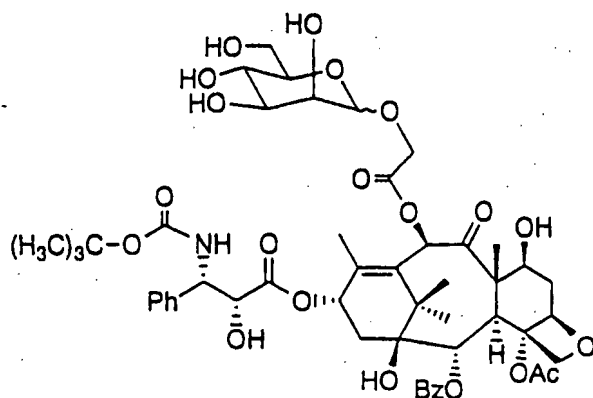


(23) 下記の式で表されるガラクトシルオキシアセチルー10-ドセタクセルを有効成分として含有する抗腫瘍剤。

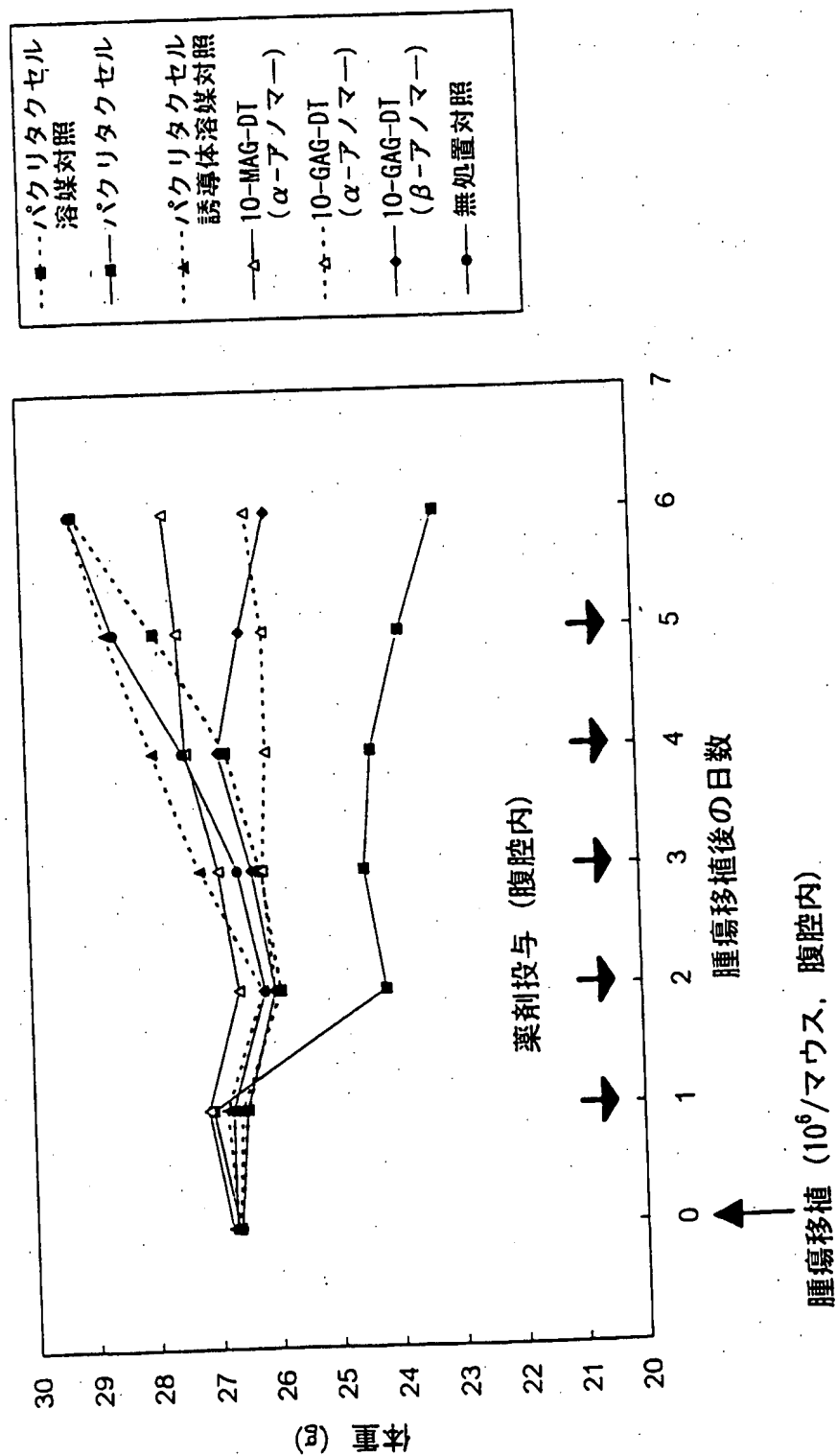


(24) 下記の式で表されるマンノシルオキシアセチルー10-ドセタクセルを有

効成分として含有する抗腫瘍剤。



【図1】



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP97/03615

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C07H15/04, C07D305/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C07H15/04, C07D305/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

REGISTRY (STN), CAPLUS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 9-241293, A (Ensuiko Sugar Refining Co., Ltd.), September 16, 1997 (16. 09. 97), Particularly refer to Claims; Par. No. (0030); Reaction steps (II) and (III) (Family: none)	1-4, 7-10, 15-18, 23, 24 5, 6, 11-14, 17-22
Y	JP, 63-30478, A (Rhone-Poulenc Sante), February 9, 1988 (09. 02. 88), Particularly refer to pages 2, 3 & EP, 253739, A & US, 4857653, A	5, 6, 11-14, 17-22
X	JP, 9-202796, A (Pharmachemie B.V.), August 5, 1997 (05. 08. 97), Particularly refer to Claims & EP, 781778, A	1

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

December 10, 1997 (10. 12. 97)

Date of mailing of the international search report

December 24, 1997 (24. 12. 97)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl[°] C07H15/04, C07D305/14

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl[°] C07H15/04, C07D305/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

REGISTRY (STN), CAPLUS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP, 9-241293, A (塩水港精糖株式会社) 16. 9月, 1997 (16. 09. 97) 特に、特許請求の範囲、[0030] 段落、反応工程 (II)、(III) 参照 (ファミリーなし)	1-4, 7-10, 15-18, 23, 24 5, 6, 11-14, 17-22
Y	JP, 63-30478, A (ローンブーラン・サント) 9. 2月, 1988 (09. 02. 88) 特に、第2~3頁参照 & EP, 253739, A & US, 4857653, A	5, 6, 11-14, 17-22
X	JP, 9-202796, A (ファルマヘミー ベー. フェー.) 5. 8月, 1997 (05. 08. 97) 特に、特許請求の範囲参照 & EP, 781778, A	1

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 12. 97

国際調査報告の発送日

24. 12. 97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

富永 保

印

4C

9551

電話番号 03-3581-1101 内線 3454